

研究论文与 科研成果报告

实验性肺放射损伤研究

占启敏

(中国医学科学院肿瘤研究所)

摘要 肺是肿瘤放疗中最敏感的器官之一,胸部照射可以导致肺早、晚期损伤。本文从生理、生化、病理、细胞等方面着重叙述了近年来实验性肺放射损伤的研究进展,并介绍了肺放射损伤发生机制主要观点。

关键词 放射损伤;放射性肺炎;放射性肺纤维化。

前 言

目前,放射治疗技术已成为胸部肿瘤治疗的主要手段之一。由于在这种治疗中,肺的正常组织会不可避免的受到照射,引起早期放射性肺炎和晚期放射性肺纤维化^[1-3]。因此,肺照射后产生的损伤效应已受到人们重视。为了评价放射造成的肺损伤,了解放射性肺损伤发生机制,近年来开展了一系列实验研究工作。

放射对肺Ⅱ型上皮细胞损伤研究

肺Ⅱ型细胞是辐射敏感细胞。肺照射后Ⅱ型细胞可发生早期损伤,表现出生物特性、形态、数量等方面的改变。并且,Ⅱ型细胞为肺组织干细胞,在肺损伤中起增殖、修复作用。所以,其放射效应已作为评价肺损伤、探讨肺损伤机制的重要指标^[4-6,35]。

肺Ⅱ型细胞能够分泌肺泡表面活性物质、以维持正常肺泡表面张力。胸部照射可以导致肺Ⅱ型细胞这一生理特性的改变。Shapiro(1982), R. G Ahier(1985)观察到小鼠肺照射后24—48小时在肺泡中可测出明显增多的表面活性物质,并持续4~8周,第3周为最高值,15—18周逐渐恢复正常^[3,4]。Rubin测定、分析了小鼠照射后7天、28天的肺泡表面活性物质含量和照射后200天小鼠死亡情况,报道在12-15 Gy剂量范围二者均有显著增加,并且早期肺泡表面活性物质含量与280天小鼠致死性有较好的平行关系和相关性。Rubin认为肺照射后肺泡表面活性物质含量变化可作为肺损伤的早期判断指标^[5,35]。

照射离体培养的肺Ⅱ型细胞,发现射线引起表面活性物质分泌显著性增加的剂量亦为12.5-15 Gy。该实验同时证实;肺泡表面活性物质早期增高主要是放射对肺Ⅱ型细胞的直接作用,而不是肺血管或其它肺细胞损伤后的继发效应^[6]。但目前仍不能肯定这种放射损伤效应是由于射线引起表面活性物质损伤性释放增加还是射线刺激表面活性物质合成增加^[5]。

肺Ⅱ型细胞的放射反应还包括Ⅱ型细胞增生^[4,7,8],Ⅱ型细胞Lamellar小体在包浆比例减少及Lamellar小体数减少^[5]。但亦有人报道肺照射后Ⅱ型细胞出现增多的Lamellar小体^[4]。

在研究放射性晚期肺损伤中,肺Ⅱ型细胞损伤被认为是主要机制之一。

正常肺泡表面的93%为高度分化、不分裂的Ⅰ型上皮细胞。当Ⅰ型细胞损伤、坏死后,Ⅱ型细胞迅速发生有丝分裂,复盖肺泡表面。给予大鼠高氧7天,造成肺损伤后,Ⅱ型细胞量增加102%,体积增加51%^[26,27]。选择性损伤肺Ⅰ型细胞,可见肺上皮恢复以Ⅱ型细胞增生为特征,并伴有Ⅱ型细胞转化成扁平上皮细胞^[27]。当放射严重损伤肺Ⅱ型上皮细胞后,可使其丧失代替Ⅰ型细胞的修复功能,导致纤维母细胞增生活跃和肺纤维化形成。

肺照射后病理生理研究

1. 肺循环障碍

〈1〉肺前列环素(**prostacyclin**、简称 **PGI₂**)产生与肺功脉灌流量^[8] 肺血管内皮是合成 **PGI₂** 的主要场所, **PGI₂** 能有效的抑制血小板聚集,舒张血管,参与血小板——血管壁相互作用和血管紧张调节。

肺单次照射后24小时, **PGI₂** 产生降低到正常值的一半,然后逐步上升,照射后六个月, **PGI₂** 值为未照射的2—3倍。最高可达正常量10倍^[23]。照射后两周内,肺动脉灌流量超过正常的25—42%,接着逐步下降,达到正常肺流灌量一半的稳定状态。小鼠肺受不同剂量射线照射后结果表明,在10—30 Gy 范围内,每增加1 Gy 的照射剂量,肺动脉灌流量下降2.7%^[36]。

推测早期 **PGI₂** 下降是对肺充血的代偿反应,而以后 **PGI₂** 增加可能是对肺低灌流量的代偿反应。**PGI₂** 量与动脉灌流量成反相关,两者代谢变化可早期反映肺辐射损伤严重性^[36]。

〈2〉胞浆素原激活因子和纤维蛋白溶解抑制因子活性测定^[12] 肺照射后纤维蛋白溶解活性改变与动脉灌流量和肺形态学变化是相关的。正常大鼠左、右两侧肺纤溶活性基本相同。单侧肺受照后,该侧纤溶活性明显下降,为正常值60%,与脉动脉灌流量降低接近平行。

胞浆素原激活因子与纤溶抑制因子是调节纤溶活性的一对重要因素。前者增加纤溶活性,后者抑制纤溶活性。照射后三个月,受照肺胞浆素原激活因子活性明显低于未照肺。照射后六个月可降到正常的50%^[23]。纤溶抑制因子活性无改变。因此,肺照射后纤溶活性降低主要是胞浆素原激活因子活性降低,而不是纤溶抑制因子活性增高。

〈3〉肺血管紧张素转换酶(**ACE**)活性测定^[13] 肺血管紧张素转换酶有调节血管紧张,增加肺血流的功能。未照射肺,两侧 **ACE** 活性为20—25毫单位/毫克蛋白。单次照射一侧肺,该肺 **ACE** 活性降低。照射后1—2月,可降至正常的25%^[23],三个月为3—4毫单位/毫克蛋白。小鼠全肺照射后的剂量—效应曲线表明,一定剂量范围内,每增加1 Gy 照射剂量, **ACE** 活性下降4.2%^[36]。体外培养的血管内皮细胞和平滑肌细胞受照射后, **ACE** 活性均发生不同程度下降^[24]。肺 **ACE** 活性降低可以是辐射对肺血管内皮的直接损伤结果,也可以是肺其它辐射效应的继发作用。

另外,肺照射后,肺血管通透性明显增加,在血管外可测出增高的白蛋白和纤维蛋白原含量^[37]。

肺循环障碍目前也被考虑作为肺晚期放射损伤的重要机制^[37]。有人认为血管损伤可以造成慢性纤维化形成^[30]。**Furuta I** 提出放射对肺毛细血管内皮损伤在肺损伤中起引发作用^[31]。

肺血管照射后,可放生血管内皮空泡样变,血小板血栓形成,导致循动脉—毛细血管循环障碍,从而妨碍代谢物运输,造成局部梗阻性坏死、实体细胞崩解,引起纤维增生^[7,8]。同时,由于肺照射后血管通透性增高,大量纤维蛋白原渗入间质,并激活形成纤维蛋白。这些纤维蛋白在肺照射后低纤维蛋白溶解活性状态下可以长期存在,持续刺激纤维母细胞增生并分泌胶原^[37,38],致使纤维化形成。

2. 呼吸频率改变

肺照射后呼吸频率改变在评价肺功能损伤^[17,18], 肺放射损伤修复^[19,32], 肺放射防护剂疗效^[20], 评价不同类型射线引起早晚期肺损伤生物效应^[21]中是一个重要参数。小鼠肺在致死量或亚致死剂量照射后, 呼吸频率增加, 剂量越高, 剂量率越大, 频率增加越早。肺照射后14—24周呼吸频率增加与放射性肺炎有关, 36周以后呼吸频率增加与肺纤维化有关。呼吸频率增加程度与病理严重程度有关^[2,10,32]。

3. 动脉血气分析

评价肺放射功能损伤的另一个常用指标是动脉血气值^[22]。LAF₁小鼠胸部照射后15周动脉氧分压显著降低, 二氧化碳分压明显升高, pH值降低。给予800 rad以下剂量小鼠未见氧分压变化。但在照射剂量与动脉血气值之间尚无明确的剂量效应关系。目前的研究期望确定一个动脉血气值与肺损伤有关的放射剂量范围^[15]。

肺照射后病理形态研究

1. 超微结构^{[7,8][12,13]}

肺照射后, 电镜首先发现肺Ⅱ型上皮细胞即刻损伤, 24小时后出现血管周围和间质水肿。一周内可见血小管血栓和管腔阻塞, 伴血管内皮空泡样变。一个月后可观察到血管内皮细胞破裂、分解, 毛细血管基底膜增厚, 肺泡隔膜含浆细胞、巨噬细胞和纤维母细胞。照射后三个月, 受照区域显示胶原聚集、肺实质细胞减少以及微血管进行性消失, 这些改变随时间延长逐渐加重。

2. 病理分期^[7,2,14~16]

根据光镜下小鼠肺照射后病理特征, 分为早、中、晚三期。

〈1〉早期(照射后26周以内): 肺泡与肺泡壁水肿, 有巨噬细胞、单核细胞渗出、浸润, 肺泡腔中可见纤维状蛋白。

〈2〉中期(照射后36周): 纤维母细胞增多, 肺泡隔膜增厚, 最显著特征是肺泡中出现缺乏Lamellar小体的泡沫状胞浆的大细胞。

〈3〉晚期(照射后52周): 有上皮细胞脱落, 消失。肺泡壁硬化, 肺泡中胶原沉着, 毛细血管及肺泡腔被纤维取代, 最后出现纤维化。

放射对肺巨噬细胞损伤研究

胸部照射后, 肺泡成熟巨噬细胞数减少和肺泡间质前巨噬细胞、未成熟巨噬细胞增生, 这种反应在2—10 Gy剂量范围是剂量依赖性^[9]。

X线照射离体肺泡巨噬细胞, 发现细胞周围有许多突起, 细胞内边缘纤维环流网形态变曲或减少。该表现类似秋水仙素处理细胞产生的情形。由于秋水仙素特异作用于细胞微管, 因此推测X线主要作用部位是巨噬细胞骨架系统的微管^[10]。有人已观察到射线抑制小牛大脑提取的微管蛋白集成微管^[11]。X线引起巨噬细胞骨架变化可以是对集合微管、微管蛋白或微管集合中心的直接作用, 也可以是阻断微管本身的代谢过程^[10]。

Biaglow提出电离辐射在胞浆可产生过氧化自由基, 因此巨噬细胞骨架变化实际上是微管蛋白巯基被氧化的结果^[34]。

离体肺巨噬细胞照射后可有运动障碍, 识别和吞噬外来异物能力改变。这种细胞机能失调程度与微管损伤程度和修复有关^[10]。

Hidefumi, Obaba(1985)研究氧对肺的损伤效应, 其认为巨噬细胞受损伤后可释放纤维因子,

这种因子引起纤维母细胞增多并促使纤维母细胞合成胶原, 导致肺纤维化。射线可以类似氧损伤肺的机理产生肺晚期放射损伤效应^[33]。

淋巴细胞被抗原激活后可释放一种易扩散因子, 该因子也能使巨噬细胞、纤维母细胞聚集。用抗巨噬细胞血清能延缓纤维化产生^[33]。因此, 辐射是否可引起肺细胞变性坏死成为一种“异己抗原”而导致免疫反应, 形成纤维化有待进一步研究。

肺照射后致死性研究

小动物致死性研究是评价肺照射后损伤效应的常用方法之一。观察指标常为 $LD_{50/180}$ (照射后 80—180 天动物死亡 50% 的剂量) 和 $LD_{50/420}$ (照射后 420 天动物死亡 50% 的剂量)^[1,25]。

Dietmar W, Siemann(1982) 观察 C_3H 和 LAF_1 小鼠肺照射后 $LD_{50/180}$ 和 $LD_{50/420}$ 值, 并加入肿瘤放射增敏剂 MISO 进行照射比较。结果表明: 各组测定的 $LD_{50/180}$ 值显著大于 $LD_{50/420}$, 而预先接受 MISO 小鼠的 LD_{50} 值无显著性差别^[1]。R. P. Hill(1983) 报道类似结果^[25]。如在动物照射前预先给予某些化疗药物, 然后观察照射合并服药的动物死亡率, 发现化疗药物可以增加这种放射效应的程度并缩短达到放射效应的时间^[39]。

组织学检查证明, $LD_{50/180}$ (早期死亡) 与急性放射性肺炎有关, $LD_{50/420}$ (晚期死亡) 与放射性肺纤维化有关^[1,25]。

肺照射致死试验有一个明确的剂量效应关系: 动物给予剂量越大, 死亡越早, 死亡率越高。同一剂量, 剂量率不同, 死亡情况也有一定差别^[1,25]。

参 考 文 献

- [1] Dietmar W Siemann,: Early and late pulmonary toxicity in mice evaluated 180 and 420 days following lung irradiation. Radiat Res. 89: 396-407 1982
- [2] E. L. Travis,: Radiation pneumonitis and fibrosis in mouse lung assayed by respiratory frequency and histology. Radiat Res 84: 133-143 1980
- [3] R. G. Ahier, Robin L.: Response of mouse lung to irradiation alteration in alveolar surfactant after neutrons and X-rays. Radiotherapy and oncology 3: 61-68 1985
- [4] Shapiro, D. L. Finkelstein; Sequential effects of irradiation on the pulmonary surfactant system. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 8: 879-882 1982
- [5] Philip Rubin,: Surfactant release as an early measure of radiation pneumonitis. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 9: 1669-1673 1983
- [6] Donato L. Shapiro,: Radiation induced secretion of surfactant from cell cultures of type II pneumocytes. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 10: 375-378 1984
- [7] Philip Rubin,: Late effects of chemotherapy and radiation therapy. Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys. 10: 5-34 1984
- [8] Chung-Hsin Ts'ao,: Prostacyclin (PG) production, arterial perfusion, and ultrastructure. Radiat Res 96: 284-293 1983
- [9] D. M. Peel and J. E. Coggle,: The effect of X-irradiation on alveolar macrophages in mice. Radiat Res. 81: 10-19 1980.
- [10] S. J. Ladyman, K. S. S. Townsend,: The effect of X-irradiation on the cytoskeleton of rat alveolar macrophages in vitro. Radiat Res. 99: 25-35 1984.
- [11] R. A. Coss, J. R. Bamburg,: The effect of X-irradiation on microtubule assembly in vitro. Radiat Res 85: 99-115 1981.
- [12] Chung-Hsin Ts'ao,: Plasminogen activator and fibrinolytic inhibitor activities. Radiat Res. 96: 301-308 1983.
- [13] William. Ward,: Radiation injury in Rat Lung; Angiotensin-converting enzyme activity. Radiat Res 96: 294-300 1983

- [14] E. L. Travis,: The sequence of histological changes in mouse lung after single doses of X-rays. *Radiat Res.* 6: 345-347 1980
- [15] Dietmar W. Seaman,: Quantitative changes in the arterial blood gases of mice following localized irradiation of lung. *Radiat Res* 93: 560-566 1983
- [16] P. G. Shankar Giri, Bruce F. Kimler,: Comparison of single fractionated and hyperfractionated irradiation on the development of normal tissue damage in rat lung. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11: 527-534
- [17] J. D. Down, D. Nicholas and G. G. Steel,: Lung damage after hemithoracic irradiation dependence on mouse strain. *Radiotherapy and Oncology*. Vol 3 № 1 29-42 1986
- [18] E. L. Travis,: The effect of breathing 100% oxygen on lung response to radiation in mice. *Radiotherapy and Oncology*. 3: 177-179 1985
- [19] Travis. E. L,: Repair in mouse lung after split doses of X-rays. *Radiat Res* 87: 166-174 1981
- [20] E. L. Travis, De UccA. A. M,: Protection of mouse lung by WR-2721 after fractionated doses of irradiation. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11: 521-526 1985
- [21] J. F. Fowler,: Early and late effects in mouse lung and rectum. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 8: 2089-2093 1982
- [22] D. W. Siemann,: Analysis of blood gas values in mice following pulmonary irradiation. *Radiat Res.* 81: 303-310 1980
- [23] William F. Ward,: Agostino Molteni,: Radiation injury in rat lung: Modification by D-penicillamine. *Radiat Res.* 98: 397-406 1984
- [24] David. B. Rubin,: Enzymatic response to radiation in cultured vascular endothelial and smooth muscle cells. *Radiat Res* 99: 420-432 1984
- [25] R. P. Hill,: Response of mouse lung to irradiation at different dose-rate. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 9: 1043-1047 1983
- [26] Dorothy Derlin Gall,: Cell of the lung: Biology and clinical implications. *Am Rev Respir Dis.* 127(3) 366-387 1983
- [27] IAN Y. R. Adamson,: The type II cells as progenitor of alveolar epithelial regeneration. *International Academy of Pathology.* 3(1) 35 1974
- [28] Mayer. K. R, Ullrich. R. L,: Effects of X-rays and fission neutrons on an induced proliferative response in lung type epithelial cells. *Radiat Res* 85: 380-389 1981
- [29] Eliot M. Rosen,: Radiation survival properties of cultured vascular smooth muscle cells. *Radiat Res* 100 (1) 1982
- [30] M. P. Lan,: Radiation-induced vascular injury and its relation to late effects in normal tissues. *Adv Radiat Biol* 9: 37-43 1981
- [31] Furuta. I,: Ultrastructure and cellular damage to rat lung with X-rays. *Kobe J med Sci* 21: 1-15 1975
- [32] Julian D. Down, Douglas F. Easton,: Repair in the mouse lung during low dose-rate irradiation. *Radiotherapy and Oncology* 6(1) 29-42 1986
- [33] Hidefumi Obara, Conrad T. Pappas,: Comparison of the effect of two and six weeks exposure to 80% and 100% oxygen on the lung of the newborn mouse. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11: 285-298 1985
- [34] J. E. Blaglow,: The effects of ionizing radiation on mammalian cells. *J. Chem Educ* 58(2): 144-156 1981
- [35] Philip Rubin, J. N. Finkelstein,: Predictive biochemical assays for late radiation effects. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 12(4) 469-476 1986
- [36] William F. Ward, Agostino Molteni,: The relationship between endothelial dysfunction collagen accumulation in irradiated rat lung. *Int. J. Radiat. Oncol. Biol. Phys.* 11 1985-1990 1985
- [37] Marilyn P. Law,: Vascular permeability and late radiation fibrosis in mouse lung. *Radiat Res* 103(1) 1985
- [38] Law. M. P.: Radiation-induced vascular injury and its relation to late effects in normal tissues. *Adv. Radiat. Biol.* 9: 37-73 1981
- [39] Hans Von der Maase, Jens Overgaard,: Effect of cancer chemotherapeutic drugs on radiation-

induced lung damage in mice. Radiotherapy and Oncology 5(3) 245-257 1986

(收到日期 1985 年 8 月 26 日)

EXPERIMENTAL STUDY ON RADIATION DAMAGE OF THE LUNG

Zhan Qimin

(Cancer Institute, Chinese Academy Of medical Sciences)

ABSTRACT The lung is one of the most sensitive organ to radiotherapy. The thoracic radiation can produce dramatic effects, both early and late. In order to value the effects of radiation on lung, a lot of efforts have been made by researchers. This paper summarized the recent progresses in experimental investigations on pulmonary radiation damage, including physiological, biological, pathological and cellular changes. In addition, main view on mechanism of pulmonary radiation damage were also involved.

KEY WORDS Radiation damage; Radiation pneumonitis; Radiation pulmonary fibrosis.